

POTENZIALITÀ, LIMITI ED ESPERIENZE PRATICHE

L'OZONO: *un biocida* innocuo per l'ambiente

>> Raffaele Guzzon

In ambito enologico si è diffusa nei consumatori una considerevole attenzione non solo alle caratteristiche organolettiche dei vini, ma anche a come queste caratteristiche sono ottenute.

In cantina vi è certamente spazio per innovare un processo produttivo che a volte sconta un pregiudizio verso tecnologie nuove, peraltro ampiamente impiegate nell'industria agroalimentare, che possono dare un contributo utile a coniugare qualità, salubrità, sicurezza e sostenibilità ambientale.

Fino a oggi la richiesta di maggiore salubrità del vino si è tradotta in un minore ricorso ad agenti antimicrobici, che consentivano all'enologo uno stringente controllo sulla microflora alterativa. Alcuni di essi, come il lisozima, sono sostanzialmente scomparsi dalle cantine mentre altri, tra i quali l'anidride solforosa, sono oggi impiegati in dosi ridotte, se comparate con quanto utilizzato qualche decennio addietro. La lodevole tendenza alla riduzione di questi composti deve però fare i conti con una maggiore suscettibilità dei vini

L'enologo si trova a dover affrontare sfide importanti che riguardano la crescente attenzione dei consumatori alle modalità di produzione e alle sostanze impiegate. L'ozono si è dimostrato un agente con potenzialità sanificanti



alle alterazioni microbiologiche, dovuta all'impatto che il mutare delle condizioni agroambientali in molti distretti viticoli europei sta avendo sulle caratteristiche compositive dei vini.

Il combinato disposto di queste tendenze fa sì che oggi si osservi una recrudescenza di alterazioni dei vini che credevamo ormai risolte (tabella 1).

OZONO E SANITÀ

Se dunque la possibilità di azione sul prodotto vino è limitata dai fenomeni descritti, l'attenzione si deve spostare sull'ambiente di cantina e sulla gestione dei processi di assicurazione dell'igiene. In questo campo, numerose tecnologie sono state messe a disposizione dei tecnici negli ultimi anni.

Tra i sistemi di disinfezione, una delle soluzioni più innovative ha riguardato l'uso dell'ozono. In questa nota andremo a descrivere le caratteristiche di tale gas, le possibili applicazioni e i suoi limiti, basandoci su esperienze pratiche condotte presso i laboratori della Fondazione Mach (Fem) e presso numerose cantine italiane.

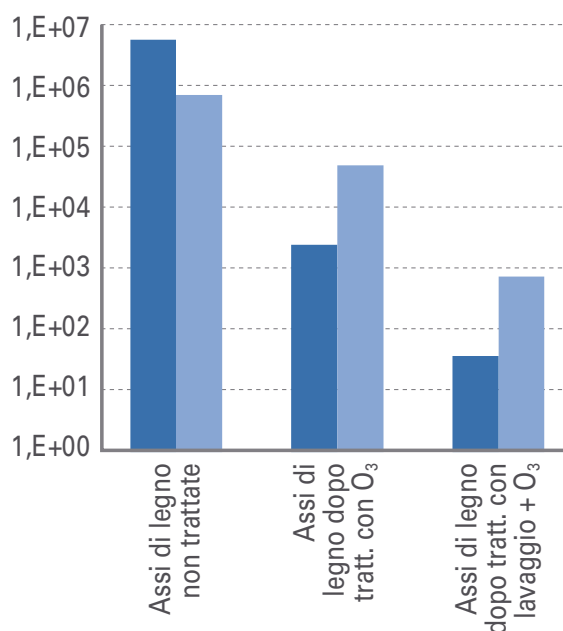
VERSATILE MA SENSIBILE

L'ozono è una forma triatomica, instabile, dell'ossigeno. Vi è dunque la tendenza, nelle condizioni ambientali che si verificano a livello di cantina, a un rapido ritorno nella forma nativa (O_2) con rilascio di un atomo di ossigeno in forma radicalica.

L'ozono è un potente ossidante, il radicale di ossigeno reagisce rapidamente con molte strutture molecolari, ad esempio i doppi legami, abbondantemente diffuse nella materia organica e soprattutto in molecole essenziali per la vita. Questo gas agisce quindi come antisettico su un ampio spettro di forme microbiche, dalle più elementari (virus) a quelle più complesse, come funghi e muffe. L'azione è aspecifica, non vi sono evidenze di particolari resistenze all'ozono, che dunque può essere considerato un biocida universale. Oltre alla notevole efficacia, della quale dettaglieremo meglio in seguito, il principale vantaggio dell'impiego di ozono è che non lascia residui pericolosi nell'ambiente in quanto tende a riequilibrarsi in ossigeno in poche decine di minuti. Al termine del trattamento non vi è dunque necessità di risciacquo o di rispetto di un tempo di decadimento per eliminare residui pericolosi, anche da prodotti sensibili come materie prime destinate al consumo umano.

Oltre a contrastare efficacemente i microrganismi e a non lasciare tracce, vi sono altri vantaggi legati a questa utile molecola, come la sua capacità di eliminare odori molesti tipici di ambienti umidi e di sbiancare superfici ammalorate da residui organici o da proliferazioni

G.1 EFFETTO DEL TRATTAMENTO CON OZONO SULLA MICROFLORA CONTAMINANTE DI ASSI IN LEGNO DI LARICE UTILIZZATE PER LA STAGIONATURA DEI FORMAGGI



PRIMA DEL TRATTAMENTO
Residui organici e elevata carica microbica

L'OZONO HA CONSENTITO DI ABBATTERE LA CARICA MICROBICA PREVENENDO IL TIPICO DIFETTO CONOSCIUTO COME "ARROSSAMENTO DEL FORMAGGIO"

microbiche. I materiali trattati con ozono non saranno dunque solo sanificati, ma più estesamente risanati, permettendo di prolungare la vita operativa di contenitori sensibili a un rapido deperimento, come botti, vasi vinari in legno, celle di appassimento (tabella 2).

Questi vantaggi hanno permesso una diffusa applicazione dell'ozono nell'industria, in particolare agroalimentare, tanto che il settore enologico è a oggi oggettivamente rimasto arretrato su questo fronte, anche a causa della legislazione che lo regola. Tralasciando gli usi industriali e biomedicali, l'ozono permette di prolungare la shelf life di molti alimenti dall'alto valore aggiunto, come germogli o piccoli frutti. Da non trascurarsi poi l'impiego dell'ozono come agente sanificante in impianti agroalimentari, su superfici critiche. L'autore ha testato l'ozono, ad esempio, come agente santificante su assi di larice, utilizzate nelle cantine di affinamento di formaggi a crosta lavata come la Fontina Valdostana o il Puzzone di Moena (foto 1). L'ozono si è rivelato un utile strumento, accoppiato a un'accurata fase preliminare di lavaggio, per eliminare la flora microbica presente sulle assi, responsabile dell'«arrossamento del formaggio» un tipico difetto di queste produzioni lattiero-casearie dovuto alla proliferazione di alcune specie batteriche alofile.

GLI SVANTAGGI DELL'OZONO

Non vi sono tuttavia solo vantaggi derivanti dall'impiego di questo gas. L'instabilità della molecola rende impossibile immagazzinare l'ozono, che dunque deve essere prodotto in loco mediante appositi generatori.

L'ozono è irritante per gli operatori e pertanto deve esser utilizzato con le dovute cautele. Inoltre, sebbene non vi siano, come vedremo in seguito, evidenze circa danni significativi qualora il gas entrasse a contatto con l'uva o il legno, il contatto con il vino o il mosto è certamente deleterio, oltre che non autorizzato dalla normativa vigente. Un altro limite dell'ozono è legato alla sua elevata reattività. Non agendo selettivamente sulle cellule, è rapidamente degradato dalla presenza di materiale organico, più in generale di sporco.

È quindi un agente sanificante da utilizzarsi in successione a un appropriato trattamento di deterzione delle superfici, come peraltro dovrebbe esser fatto per la maggior parte dei sanificanti. Desta invece perplessità l'uso, proposto di recente, dell'ozono in «campo aperto» ovvero in applicazioni in campagna su diverse cultivar fruttifere come sostituto o coadiuvante dei comuni trattamenti anticrittogamici. La criticità in questo caso non è tanto data dall'effi-



DOPO IL TRATTAMENTO
Abbattimento della carica microbica

cacia dell'ozono come agente di contrasto agli agenti patogeni, quanto dalla difficoltà nel produrlo efficacemente in campo e garantire un adeguato contatto tra il gas e i frutti, visto il rapidissimo decadimento dell'ozono

in condizioni non controllate. Più promettente l'impiego dell'ozono in ambienti confinati come le serre, sperimentazioni in questo senso sono state svolte anche presso la Fondazione Mach.

ESPERIENZE PRATICHE IN ENOLOGIA

L'autore ha portato avanti, insieme ai colleghi della Fem, numerose sperimentazioni riguardanti l'impiego dell'ozono in cantina. Un primo lavoro, pubblicato sull'*Australian Journal of Grape and Wine Research* (Guzzon *et al.*, 2013) ha preso in considerazione gli effetti dell'ozono su numerose specie di microrganismi di interesse enologico, sia utili sia alterativi, nonché sui composti fenolici che caratterizzano i legni impiegati per la costruzione dei vasi vinari. I risultati hanno dimostrato come l'ozono sia effettivamente fortemente influenzato dai parametri dell'ambiente di applicazione, in particolare quando il trattamento avviene mediante

l'impiego di acqua ozonizzata. Temperature superiori ai 15 °C e carica di materiale organico nell'acqua riducono fortemente la concentrazione iniziale di ozono disponibile e la sua permanenza a livelli aventi un'effettiva azione biocida (grafico 2).

Solo in condizioni ottimali, ovvero con ambienti a temperature inferiori 10 °C e bassa carica organica, si può ottenere una concentrazione superiore ai 2 ppm, livello minimo per avere un rilievo sanitizzante, per almeno 30 minuti.

Tra i microrganismi di interesse enologico si sono osservate differenze nella sensibilità all'ozono a basse concentrazioni cellulari. Ad esempio, con cariche cellulari inferiori a 105 cellule/mL l'ozono ha dimostrato un reale effetto biocida verso molte specie microbiche alterative, tra le quali *B. bruxellensis*. Al contrario, cariche cellulari superiori al milione di cellule/mL hanno ridotto l'azione dell'ozono, probabilmente proprio perché

T.1 SINTESI DELLE PRINCIPALI ALTERAZIONI INDOTTE DA LIEVITI E BATTERI NEL VINO E FATTORI DI RISCHIO

Difetto	Microrganismi coinvolti	Substrati	Cause e fattori di rischio	Prodotti accumulati nel vino
Rallentamento o arresto di fermentazione	Lieviti	Zuccheri	Errata gestione dell'inoculo dei lieviti o della preparazione del pied de cuve. Errata nutrizione dei mosti	Etanolo (scarso), acido solfidrico, SO ₂ , ac. acetico
Innalzamento acidità volatile	Batteri acetici, batteri lattici, <i>Brettanomyces</i> spp.	Zuccheri (esosi e pentosi), acidi organici (ac. citrico), etanolo	Residui zuccherini in presenza di acidità modeste e scarsi livelli di SO ₂	Acido acetico, acetaldeide, etil-acetato
Carattere "Brett"	<i>Brettanomyces</i> spp.	Peptidi, aminoacidi, acidi cinnamici	Scarsa igiene di cantina, uve non perfettamente sane, errata gestione delle fermentazioni, errato impiego dell'SO ₂	Fenoli volatili, ammine biogene, piridine
Spunto lattico	Batteri lattici (<i>O. oeni</i> , <i>Pediococcus</i> spp, <i>Lactobacillus</i> spp.)	Acidi organici (ac. malico e citrico), zuccheri	Bassi livelli di acidità, errata gestione della fermentazione malolattica, solfitazioni tardive o insufficienti	Ac. lattico, diacetile, acetoino e butandiolo, ac. acetico
Filante o grassume	Batteri lattici (prevalentemente <i>Lactobacillus</i> spp.)	Zuccheri residui	Scarsa acidità e modesto grado alcolico.	Esopolisaccaridi (aspetto viscoso del vino)
Accumulo di composti tossici	Batteri lattici, <i>Brettanomyces</i> spp.	Residui di proteine, peptidi o aminoacidi, etanolo	Eccesso di nutrizione azotata. Scarsa igiene e errata gestione dei trattamenti post-fermentazione	Ammine biogene, etil-carbammato

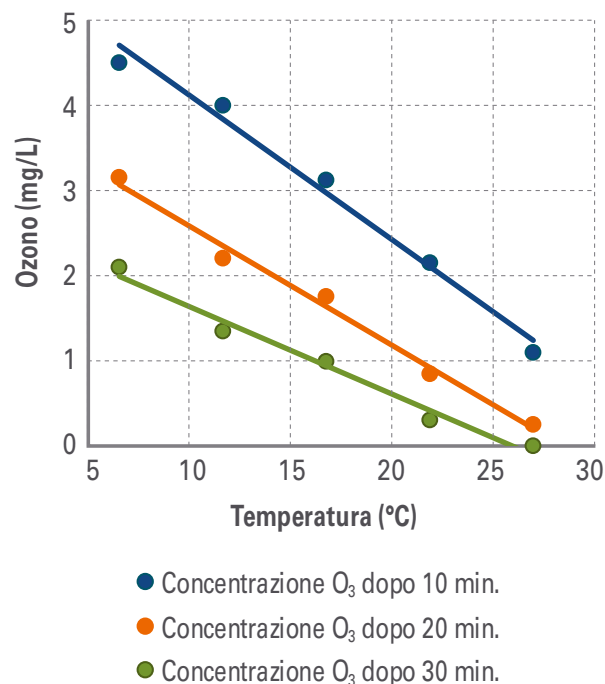


l'abbondante presenza di materiale organico ha rapidamente inattivato l'agente sanificante. In ogni caso, se consideriamo che sono da ritenersi pericolose contaminazioni di *Brettanomyces* nell'ordine delle 103 cellule, possiamo ritenere che l'ozono svolga un'importante azione di contrasto verso questo lievito alterativo. Altrettanto interessante è stato il test svolto su campioni di legno, dove sono state raggiunte concentrazioni molto elevate, nell'ordine dei 1.000 ppm. In nessun caso vi è stata una variazione significativa del profilo dei composti fenolici trasferibili dal legno al vino.

L'analisi statistica ha dimostrato che tempo di contatto tra legno e vino, nonché il grado di tostatura del legno, influenzano in maniera significativa il profilo fenolico dei vini ottenuti, mentre nessuna

G.2

DECADIMENTO DELLA CONCENTRAZIONE DI OZONO IN ACQUA IN FUNZIONE DELLA TEMPERATURA



modificazione è stata correlabile al trattamento con ozono che i legni avevano precedentemente subito.

MIGLIORI CONDIZIONI D'USO

Dopo questa prima esperienza di validazione dell'ozono come agente sanificante nell'industria enologica, diversi test sono stati svolti in cantina con tre obiettivi: la sanificazione di vasi vinari in legno, il controllo microbiologico di tini in acciaio inox e il contrasto alla proliferazione delle muffe e dei microrganismi alterativi sulle uve poste in appassimento. L'ozono si è dimostrato un agente sanificante capace di una notevole efficacia verso microrganismi a prevalente carattere anaerobico, o comunque non fortemente adattati a resistere a stress ossidativi.

Tra questi i batteri lattici e *Brettanomyces bruxellensis* sono, nell'ambito enologico, i più sensibili (grafico 3). Risultati minori sono stati ottenuti verso *S. cerevisiae* e i batteri acetici.

La massima efficacia dell'ozono si ottiene agendo su superfici adeguatamente pulite e, nel caso si applichi l'ozono in fase gassosa, asciutte. In caso di dispersione dell'ozono in acqua è essenziale utilizzare acqua ben fredda e con una bassa carica organica, altrimenti pretrattare l'acqua con ozono per eliminare i residui

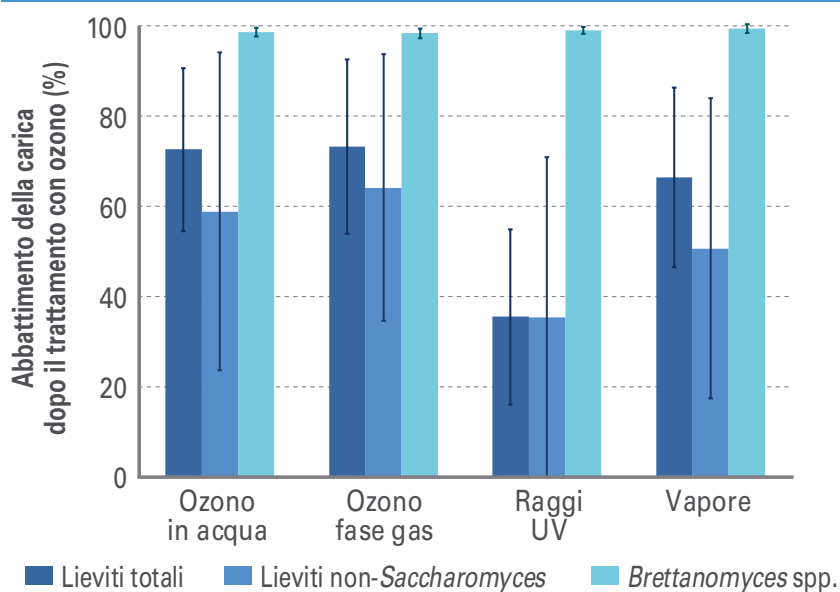
organici presenti prima della sanificazione.

L'ozono agisce efficacemente quando i tempi di contatto sono piuttosto lunghi, nell'ordine dei 30 minuti, e con concentrazioni elevate, variabili in funzione del materiale e del grado di contaminazione microbica, ma comunque superiori a 25-30 ppm a regime, ovvero quando l'ambiente da trattare sia stabilmente saturato con ozono. È dunque necessario disporre di adeguati generatori che consentano, in funzione del volume del contenitore da trattare e del grado di contaminazione, di disporre di sufficienti concentrazioni di agente sanificante. Non è poi da trascurare il fatto che l'ozono tenda a stratificare nella parte bassa dei contenitori e dunque, in caso di tini o botti di dimensioni elevate, è necessario disporre di un adeguato impianto di movimentazione del gas per raggiungere rapidamente una concentrazione efficace e omogenea all'interno del vaso vinario. Oltre all'adeguata potenza del generatore, vi è la necessità di monitorare in diretta le concentrazioni presenti nell'ambiente da trattare, dato che l'ozono tenderà rapidamente a decadere. Sensori specifici, posti in linea nel punto più lontano dal generatore, consentiranno un adeguato monitoraggio e dunque un trattamento ben calibrato sulle reali esigenze di ogni situazione di cantina. Se si decidesse di operare con concentrazioni modeste, inferiori a 10 ppm, è necessario tenere presente che si potrà ottenere un effetto batteriostatico, durante la fase di applicazione del gas, ma con la concreta probabilità che la completa eradicazione dei microrganismi non sia raggiungibile, anche prolungando i tempi di trattamento.

T.2 PRINCIPALI APPLICAZIONI DELL'OZONO NEL SETTORE ENOLOGICO

Applicazione	Superfici/materiali coinvolti	Punti critici	Punti di forza rispetto ai trattamenti sanificanti tradizionali
Controllo della proliferazione microbica su uve in post-raccolta	Uve integre poste in appassimento su graticci	Organizzazione delle celle di appassimento, autorizzazione Oiv – Organizzazione internazionale della vigna e del vino	Controllo a medio termine di microrganismi alterativi senza residualità. Assenza di danni alle uve. Possibile aumento della frazione polifenolica su uve rosse
Sanificazione di vasi vinari e attrezzature in legno	Legni di impiego enologico (rovere, acacia, castagno, ecc..)	Applicazione su contenitori di ampia dimensione, trattamento in ambienti confinati. Necessaria un'attenta progettazione dell'impianto e la validazione del trattamento	Alta efficacia, assenza di danni ai materiali o residualità di agenti antimicrobici. Eliminazione di odori sgradevoli di difetti cromatici
Sanificazione di impianti e contenitori in acciaio inox	Acciaio per impianti alimentari, attenzione a inserti in altri materiali	Compatibilità di materiali accessori (guarnizioni, sensori, rubinetterie, raccordi e tubature flessibili. Applicazione in impianti di grandi dimensioni senza opportuni adattamenti del generatore (es. soffiante, sensori di concentrazione, ecc..)	Alta efficacia, assenza di danni ai materiali o residualità di agenti antimicrobici
Igiene di cantina	Pareti, impianti ausiliari, acque reflue	Compatibilità dei materiali e struttura dei locali o degli impianti da trattare	Efficacia nel controllo della proliferazione microbica senza residualità chimiche pericolose per l'uomo o per i vini. Abbattimento dei residui di sostanza organica, risanamento da muffe o parassiti

G.3 TRATTAMENTO CON OZONO DI BARRIQUES IN COMPARAZIONE CON VAPORE E RAGGI UV



SI NOTI L'EFFICACIA DELL'OZONO, IN PARTICOLARE VERSO IL GENERE *BRETTANOMYCES* SPP.

APPLICABILITÀ IN CANTINA

L'ozono può rappresentare oggi un'alternativa valida, sostenibile e versatile ai comuni agenti sanificanti impiegati in cantina. Tuttavia, questo gas ha caratteristiche del tutto particolare, che lo rendono ottimale per cantine di dimensioni medie o piccole, attente al valore delle loro produzioni enologiche e dunque interessate a migliorare i punti critici della filiera produttiva. Per poter sfruttare al meglio le potenzialità dell'ozono occorre, oltre che affidarsi a fornitori qualificati e investire in un generatore adeguatamente dimensionato, prevedere una fase di messa a punto del nuovo processo di sanificazione, per adattarne le variabili a ogni specifica esigenza di cantina.

Raffaele Guzzon

Centro di trasferimento tecnologico.
Fondazione Edmund Mach, (Trento)

Questo articolo è corredato di bibliografia/ contenuti extra. Gli abbonati potranno scaricare il contenuto completo dalla Banca Dati Articoli in formato PDF su:
www.informatoreagrarario.it/bdo

L'ozono: un biocida innocuo per l'ambiente

BIBLIOGRAFIA

[1] Guzzon R., Carafa I., Tuohy K., Cervantes G., Verneti L., Barmaz A., Larcher R., Franciosi E. (2017) Exploring the microbiota of the red-brown defect in smear-ripened cheese by 454-pyrosequencing and its prevention using different cleaning systems. *Food Microbiology* 62, 160-168.

[2] Guzzon R., Nardin T., Micheletti O., Nicolini G., Larcher R. (2013) Antimicrobial activity of ozone. Effectiveness against the main wine spoilage microorganisms and evaluation of impact on simple phenols in wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 19, 180-188.

[3] Guzzon, R., Bernard, M., Barnaba, C., Bertoldi, D., Pixner, K., Larcher, R. (2017). The impact of

different barrel sanitation approaches on the spoilage microflora and phenols composition of wine. *Journal of Food Science and Technology*. 54, 810-821.

[4] Guzzon, R., Widmann, G., Malacarne, M., Nardin, T., Nicolini, G., Larcher, R. (2011) Survey of the yeast population inside wine barrels and the effects of certain techniques in preventing microbiological spoilage. *European Food Research and Technology*. 233, 285-291.

[5] Guzzon, R., Franciosi, E., Moser, S., Carafa, I., Larcher, R. (2018) Application of ozone during grape drying for the production of straw wine. Effects on the microbiota and compositive profile of grapes. *Journal of Applied Microbiology*. 125, 513-527.



www.viteevino.it



Edizioni L'Informatore Agrario

Tutti i diritti riservati, a norma della Legge sul Diritto d'Autore e le sue successive modificazioni. Ogni utilizzo di quest'opera per usi diversi da quello personale e privato è tassativamente vietato. Edizioni L'Informatore Agrario S.r.l. non potrà comunque essere ritenuta responsabile per eventuali malfunzionamenti e/o danni di qualsiasi natura connessi all'uso dell'opera.